

气相色谱-串联质谱法检测蔬菜中 8 种 氨基甲酸酯类农药残留

张 晶, 韩见龙, 郑熠斌, 沈海涛, 陈 苒*

(浙江省疾病预防控制中心, 杭州 310051)

摘 要: **目的** 建立气相色谱-串联质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)同时测定蔬菜样品中 8 种氨基甲酸酯农药残留的检测方法。**方法** 样品加入内标溶液后, 经乙腈提取, 氯化钠分层, 上清液用石墨化炭黑固相分散萃取净化, 残留农药经 DB-5MS 毛细管色谱柱分离, 气相色谱-质谱联用仪检测分析。**结果** 8 种氨基甲酸酯农药在 0.01~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内的加标线性关系良好, 相关系数均大于 0.99, 方法检出限为 0.01 mg/kg, 加标回收率范围在 72.58%~98.48%之间, 相对标准偏差为 4.38%~12.63%。**结论** 该方法灵敏度好, 选择性高, 操作简单, 定性定量准确可靠, 适合多种蔬菜样品中氨基甲酸酯农药的多残留检测。

关键词: 气相色谱-串联质谱法; 氨基甲酸酯; 农药

Detection of 8 carbamate pesticide residues in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry

ZHANG Jing, HAN Jian-Long, ZHENG Yi-Bin, SHEN Hai-Tao, CHEN Qing*

(Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for simultaneous determination of 8 carbamate pesticides residues in vegetable samples by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** After adding internal standard solution, the sample was extracted by acetonitrile, and stratified by sodium chloride. The supernatant was purified by graphitized carbon black solid phase dispersion extraction, the residual pesticide was separated by DB-5MS capillary column, and detected and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. **Results** The linearity of 8 carbamate pesticides was good in the range of 0.01–1.0 g/mL, the correlation coefficient was greater than 0.99, the detection limit was 0.01 mg/kg, the recovery rate was in the range of 72.58%–98.48%, and the relative standard deviation was 4.38%–12.63%. **Conclusion** This method is simple, sensitive, selective and accurate and could be applied for simultaneous detection of varieties of carbamate pesticides in vegetable samples.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; carbamate; pesticides

1 引 言

氨基甲酸酯类是在有机磷之后发展起来的合成农药, 在农业生产中的应用广泛, 其全球使用量已超过有机磷农

药, 销售额仅次于拟除虫菊酯类农药位居第 2。有研究表明, 氨基甲酸酯农药具有致癌性, 国际癌症研究机构在 2007 年把氨基甲酸酯类列为 2A 类致癌物, 联合国粮农组织和世界卫生组织下的食品添加剂联合专家委员会 2005

*通讯作者: 陈苒, 博士, 主任医师, 主要研究方向为公共卫生。E-mail: qingchen@cdc.zj.cn

*Corresponding author: CHEN Qing, Ph.D, Professor, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China. E-mail: qingchen@cdc.zj.cn

年对有关氨基甲酸酯类农药进行评估,认为经食物和酒精饮品摄入的氨基甲酸酯类农药总量,可能对健康构成潜在的风险^[1-3]。

目前,氨基甲酸酯类农药残留分析手段主要有液相色谱法、气相色谱法、液相色谱-串联质谱法和气相色谱-串联质谱法等^[4-6]。液相色谱法直接测定氨基甲酸酯类农药,采用紫外检测器,其灵敏度相对较低,灵敏度高的荧光检测器则需要柱后衍生装置^[7,8]。气相色谱是一种检测农药残留有效的分离分析方法,但在定性方面存在弊端,特别是在多残留分析方面,而质谱在定性方面有突出作用,气质联用能够提供可信的定性和定量信息^[9,10]。液相色谱-串联质谱法在农残的多残留检测中,在分离、定性、定量方面的优势非常明显,但液质联用仪的仪器价格和运行成本相对气质联用仪来说要高很多^[11-14]。气相色谱-串联质谱法具有无需衍生化、操作相对简单的特点,但复杂基质效应的存在给定量分析带来较大干扰。本研究以四季豆为研究对象,采用基质加标标准曲线的内标定量方法,建立灭多威、速灭威、异丙威、仲丁威、残杀威、克百威、抗蚜威和甲萘威等 8 种氨基甲酸酯类农药残留的气相色谱-串联质谱检测方法,以期消除复杂基质效应对农残定量分析的干扰作用,并保证仪器灵敏度符合国家规定的氨基甲酸酯类农药的残留限量要求^[15]。

2 材料与方法

2.1 仪器设备

7890A/7000 气质联用仪、DB-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国 Agilent 公司); Vibramax 100 涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司); MTN-2800 氮吹仪(天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

2.2 试剂

氨基甲酸酯类农药标准品(纯度均超过 98%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GMBH 公司); 乙腈(农残级, Fisher Chemical); 无水硫酸镁、氯化钠(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司)。

2.3 混合标准溶液的配制

准确称取各氨基甲酸酯标准品 1.00 mg, 乙腈分别溶解并定容至 10 mL, 混匀后准确量取各单标溶液 1.0 mL, 混合后乙腈定容至 10 mL 并混匀, 配制成浓度均为 10.0 μg/mL 的氨基甲酸酯农药的混合标准溶液。

2.4 内标溶液的配制

准确称取毒死蜱-D₁₀ 标准 1.00 mg, 乙腈溶解定容至 10 mL 并混匀, 准确量取 1.0 mL 上述溶液, 乙腈定容至 10 mL, 混匀后配制成浓度为 10.0 μg/mL 的毒死蜱-D₁₀ 内标溶液。

2.5 样品预处理

2.5.1 样品制备

取 1 kg 左右蔬菜样品(本实验以四季豆作为供试样品), 切碎混匀(样品无需洗涤, 勿切太碎, 避免组织液流失), 四分法取样, 所取样品均分为 2 份, 1 份供测试, 1 份置于-20 °C 冰箱中保存备用。供测试的样品用破壁机磨碎混匀。

2.5.2 样品提取

准确称取磨碎混匀的四季豆样品 10.00 g 于 50 mL 具塞离心管中, 并准确加入乙腈 10.0 mL, 振荡器涡旋振荡 15 min, 加入 5 g 氯化钠后继续震荡 5 min, 8000 r/min 离心 5 min。

净化: 称取 0.1 g 石墨化炭黑和 0.2 g 无水硫酸镁于 2.0 mL EP 管中, 并加入 2.0 mL 离心上清液, 涡旋振荡 1.0 min, 14000 r/min 离心 2 min, 取上清液进 GC-MS 检测。

2.6 气质联用检测方法

(1)色谱柱: DB-5MS 石英毛细管柱: 30 m×0.25 mm, 0.25 μm(膜厚); 载气: 氦气(纯度>99.99%); 进样口温度: 250 °C, 不分流进样; 柱温升温程序: 初始温度 60 °C, 保持 1.0 min, 15 °C/min, 升至 250 °C, 保持 20 min; 辅助温度: 250 °C。

(2)质谱方法: 离子源温度 230 °C; 电离方式: 电子轰击(EI); 电子轰击能量 70 eV; 监测方式: 选择离子扫描(selective ion scanning, SIM); 四极杆温度 150 °C; 容积延迟 4 min; 监测离子见表 1。

3 结果与分析

3.1 方法检测线性及检测限

根据建立的方法, 称取多份制备好的四季豆阴性样品各 10.00 g, 分别加入氨基甲酸酯农药的混合标准溶液 10、50、100、500、1000 μL, 并分别加入内标溶液 50 μL, 按 2.5 方法进行样品预处理, 并按 2.6 检测方法对样品进行气质联用检测。线性回归方程及相关系数见表 1。结果表明, 在 0.01~1.00 μg/mL 浓度范围内, 各农药浓度与相应的定量离子峰面积线性关系良好。该研究以最低添加浓度作为目标物的检出限, 各氨基甲酸酯农药的检出限均为 0.01 mg/kg。

氨基甲酸酯农药混合标准溶液按 10 倍法, 用乙腈稀释为浓度分别为 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 μL/mL 的系列混合标准溶液, 按 2.6 检测方法对混合标准溶液进行气质联用检测。线性回归方程及相关系数见表 2。结果表明, 在 0.01~1.00 μg/mL 浓度范围内, 各农药浓度与相应的定量离子峰面积线性关系良好, 其相关系数明显高于基质加标回收标准曲线的相关系数。

表 1 氨基甲酸酯农药的定量定性离子以及基质加标回收标准曲线的线性方程和相关系数

Table 1 Quantitative and qualitative ions of carbamate pesticides and linear equation and correlation coefficient of matrix standard recovery curve

农药	出峰时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)	线性方程	相关系数(r^2)
灭多威	6.030	105	58, 88	$Y=135152X+4369$	0.9936
速灭威	10.057	108	90, 91	$Y=115283X-8726$	0.9969
异丙威	10.630	121	91, 136	$Y=2435923X-11573$	0.9970
仲丁威	11.165	121	107, 150	$Y=295641X-10312$	0.9985
残杀威	11.284	110	81, 152	$Y=194875X-9077$	0.9990
克百威	12.425	164	131, 149	$Y=624304X+3572$	0.9957
抗蚜威	13.009	164	72, 238	$Y=1975544X-6655$	0.9988
甲萘威	13.657	144	89, 115	$Y=437509X+2517$	0.9972

表 2 氨基甲酸酯农药溶剂标准曲线的线性方程和相关系数

Table 2 Linear equation and correlation coefficient of standard curve of carbamate pesticide solvent

农药	出峰时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)	线性方程	相关系数(r^2)
灭多威	6.030	105	58, 88	$Y=156037X+3322$	0.9995
速灭威	10.057	108	90, 91	$Y=153671X-6702$	0.9996
异丙威	10.630	121	91, 136	$Y=2638715X-9351$	0.9998
仲丁威	11.165	121	107, 150	$Y=311582X-8704$	0.9995
残杀威	11.284	110	81, 152	$Y=233926X-3501$	0.9999
克百威	12.425	164	131, 149	$Y=585942X-2765$	0.9994
抗蚜威	13.009	164	72, 238	$Y=194875X-9077$	0.9997
甲萘威	13.657	144	89, 115	$Y=509037X+3205$	0.9999

3.2 方法精密度和准确度

称取多份制备好的四季豆阴性样品各 10.00 g, 分别加入混合标准溶液 10、50 和 100 μL , 并准确加入内标标准溶液 50 μL , 进行 3 个水平(0.01、0.05 和 0.1 mg/kg)的加标回收实验, 每个添加水平 6 个平行样本, 先以 2.4 的基质加标标准曲线作为标尺, 以毒死蜱- D_{10} 作为内标, 计算回收率; 然后以溶剂标准曲线作为标尺, 外标法计算回收率, 结果见表 3。各氨基甲酸酯农药的内标法回收率在 72.58%~98.48%之间, 方法的相对标准偏差最小为 4.38%, 最大为 12.63%, 符合农残检测要求; 外标法的回收率在 38.42%~140.53%之间, 方法的相对标准偏差最小为 8.22%, 最大为 25.33%, 数据离散度太大。从检测数据可以看出, 基质加标标准曲线内标法明显优于溶剂标准曲线外标法对氨基甲酸酯类农药的残留分析。基质加标标准曲线内标法的加标浓度参考国家规定的氨基甲酸酯农药在农产品中最低残留限量 0.02 mg/kg ^[15], 在其下设置加标浓度, 证明样品含量低于限量值时, 方法定量准确。

3.3 氨基甲酸酯农药的气质联用图谱

各氨基甲酸酯农药的定量定性离子气质联用图谱见图 1~8。各农药峰型尖锐对称, 分离度好, 无杂质干扰。

4 讨 论

4.1 色谱条件的优化

用毛细管色谱柱对多种氨基甲酸酯农药进行分离, 程序升温在保证农药充分分离的基础上, 尽量缩短了分离时间。选择离子扫描和分段式监测的质谱方法, 提高了方法的检测灵敏度, 且加强了对目标化合物的定性分析, 尽可能避免样品假阳性的出现。

4.2 前处理条件的优化

用乙腈作为提取溶剂, 过量的氯化钠可以充分分离样品中的有机相和水相。石墨化炭黑作为净化材料, 可以有效吸附样品杂质, 无水硫酸镁吸附乙腈相中残留的水分, 可以保护色谱柱和检测仪器。方法采用固相分散萃取对样

品进行净化,其优点是:在保证净化效果的基础上,减少有机溶剂的使用,并缩短样品分析时间,节省了大量的人力、物力,既有利于降低检测成本,又提高了对环境的友好程度;缺点是:可能产生系统误差,定量不够准确,针对这一点,方法采用内标和加标标准曲线的定量方法,消除了系统误差,同时也消除了基质效应和提取净化时产生的损失,定量准确可靠。

5 结 论

本研究建立了 8 种氨基甲酸酯农药在蔬菜样品中的气质联用残留检测方法,经优化的色谱-质谱条件和样品前处理,采用固相分散萃取净化方法,降低了复杂基质效应的影响,同时采用内标和加标多点校正的定量方法,进一步保证了检测结果的准确性。

表 3 四季豆样品中氨基甲酸酯农药的方法加标回收率实验(n=6)
Table 3 Determination of carbamate pesticide in green bean samples by method and recovery rate experiment with standard addition (n=6)

农药名称	加标值/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)		平均回收率/%		相对标准偏差/%	
		基质 内标法	溶剂 外标法	基质 内标法	溶剂 外标法	基质 内标法	溶剂 外标法
灭多威	0.01	0.0075	0.0038	75.35	38.42	10.57	21.33
	0.05	0.0426	0.0325	85.28	65.06	8.41	15.62
	0.1	0.0884	0.1153	88.41	115.32	6.72	18.75
速灭威	0.01	0.0073	0.0045	72.58	45.21	12.63	23.24
	0.05	0.0387	0.0304	77.38	60.79	9.59	14.87
	0.1	0.0757	0.1092	75.67	109.25	10.11	11.69
异丙威	0.01	0.0084	0.0116	84.29	115.55	5.42	16.42
	0.05	0.0462	0.0591	92.35	118.29	7.09	19.27
	0.1	0.0932	0.1077	93.17	107.67	6.17	11.55
仲丁威	0.01	0.088	0.0106	88.37	105.96	7.22	17.22
	0.05	0.0451	0.0562	90.24	112.38	6.16	21.21
	0.1	0.0962	0.0972	96.24	97.20	4.38	8.22
残杀威	0.01	0.0094	0.0066	94.36	66.39	6.36	15.79
	0.05	0.0461	0.0358	92.19	71.55	7.59	10.73
	0.1	0.0985	0.1123	98.48	112.30	6.94	14.57
克百威	0.01	0.0080	0.0122	79.94	121.88	10.01	17.68
	0.05	0.0378	0.0703	75.66	140.53	7.77	23.15
	0.1	0.0903	0.1116	90.27	111.64	11.21	10.38
抗蚜威	0.01	0.0092	0.0050	91.69	50.07	8.55	18.37
	0.05	0.0443	0.0346	88.53	69.19	9.12	19.64
	0.1	0.0965	0.1035	96.50	103.50	6.73	23.67
甲萘威	0.01	0.0096	0.0062	96.42	62.26	7.59	25.33
	0.05	0.0458	0.0274	91.57	54.91	6.21	22.61
	0.1	0.0978	0.1225	97.85	122.53	4.49	14.35

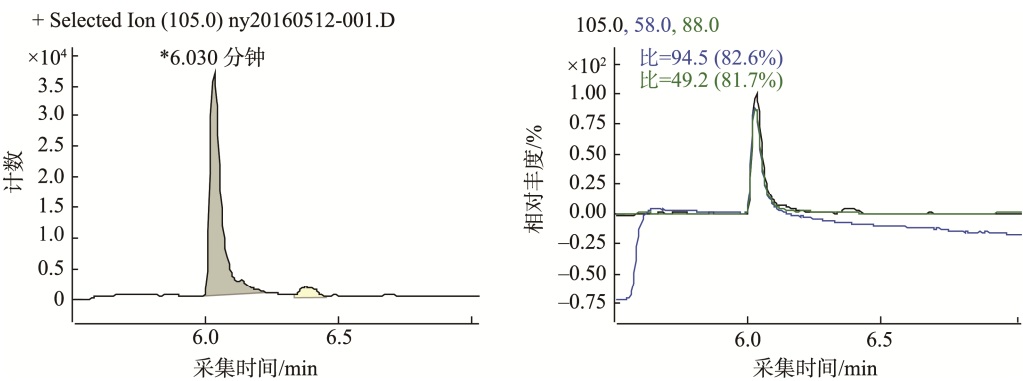


Fig.1 GC-MS map of methomyl

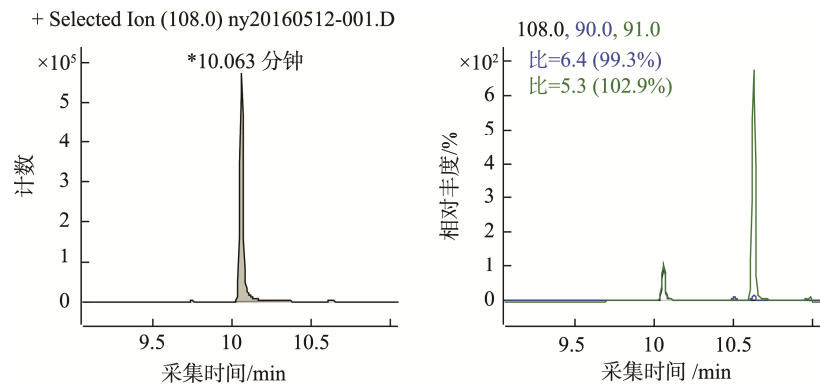


Fig.2 GC-MS chromatogram of tamecarb

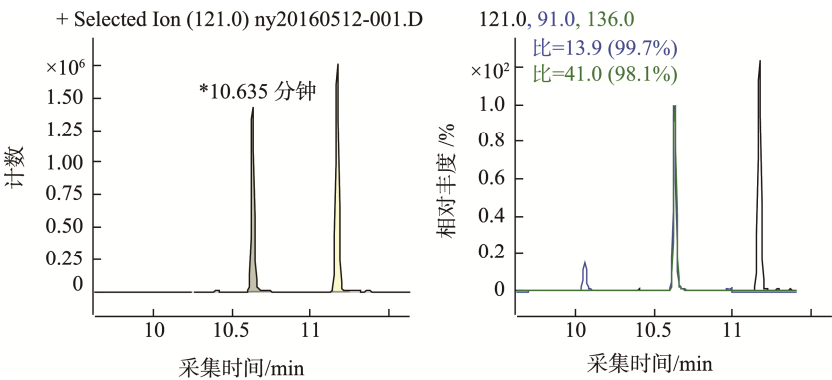


Fig.3 GC-MS map of isoproc carb

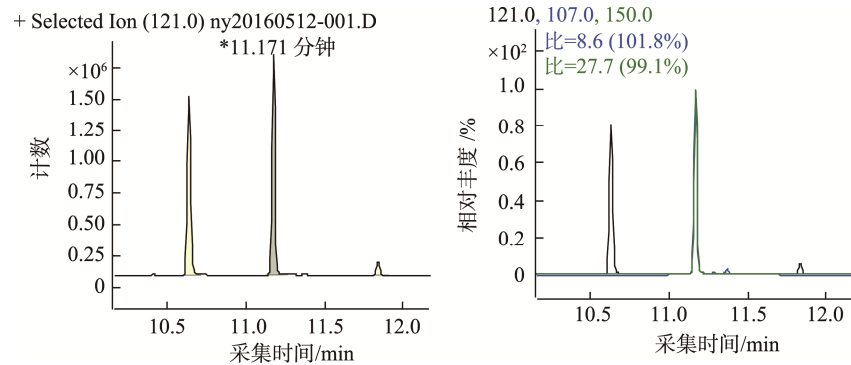


Fig.4 GC-MS chromatogram of butyl carboxylate

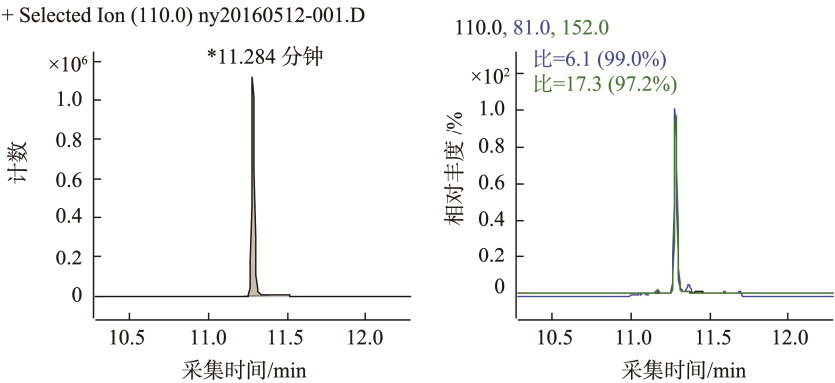


图 5 残杀威气质联用图谱

Fig.5 GC-MS map of propoxur

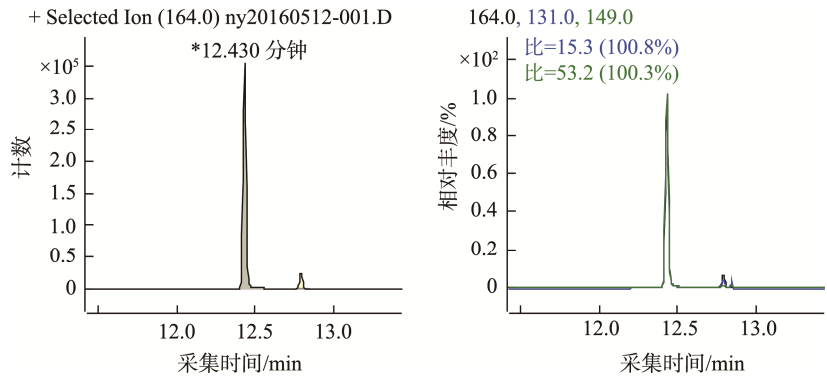


图 6 克百威气质联用图谱

Fig.6 GC-MS map of carbofuran

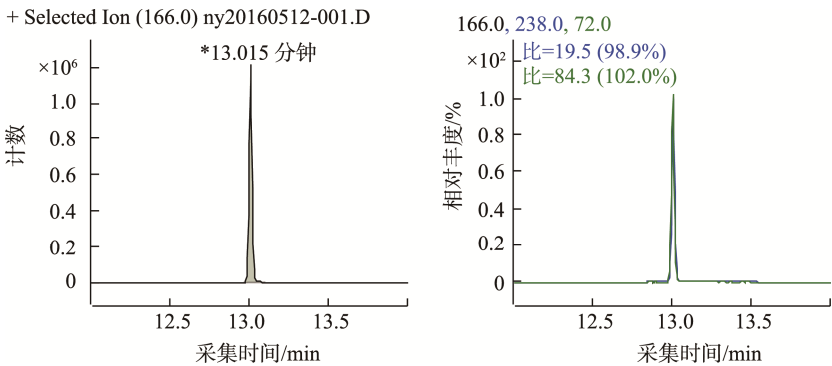


图 7 抗蚜威气质联用图谱

Fig.7 GC-MS map of pirimicarb

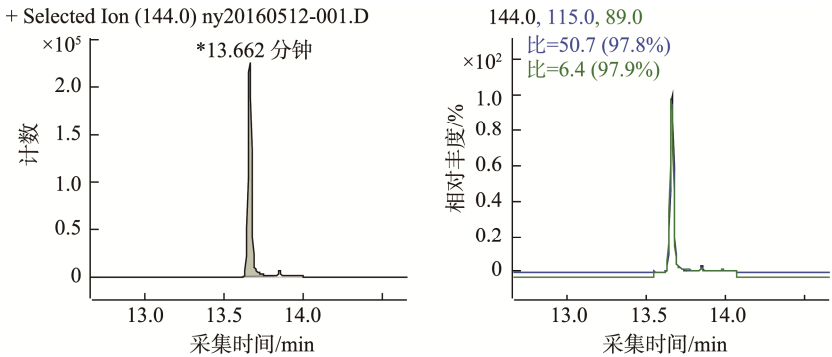


图 8 甲萘威气质联用图谱

Fig.8 GC-MS map of carbaryl

参考文献

- [1] Altieri A. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Vol 96. alcohol consumption and ethyl carbamate [M]. 2010.
- [2] Zhou Y, Guan J, Gao W, *et al.* Quantification and confirmation of fifteen carbamate pesticide residues by multiple reaction monitoring and enhanced product ion scan modes via LC-MS/MS QTRAP system [J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2496.
- [3] Wilkowska A, Biziuk M. Determination of pesticides residues in food matrices using the QuEChERS methodology [J]. *Food Chem*, 2011, 125, 803–812.
- [4] Rajendra P, Niraj U, Vijay K. Simultaneous determination of seven carbamate pesticide residues in gram, wheat, lentil, soybean, fenugreek leaves and apple matrices [J]. *Microchem J*. 2013, 111, 91–96.
- [5] 李志伟, 梁丹, 张建夫. 氨基甲酸酯类农药残留分析方法的研究进展 [J]. *华中农业大学学报*, 2008, 27(5): 691–695.
- Li ZW, Liang D, Zhang JF. Research progress of analytical methods for carbamate pesticide residues [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2008, 27(5): 691–695.
- [6] 张帆, 李忠海, 王利兵, 等. 食品中氨基甲酸酯类农药残留的检测方法研究进展 [J]. *中国食物与营养*, 2010, (2): 64–67.
- Zhang F, Li Zh, Wang LB, *et al.* Advancement of the determination method of carbamate pesticide residues in food [J]. *Food Nutr China*, 2010, (2): 64–67.
- [7] 刘宏程, 杨光宇, 马雪涛, 等. 测定中药材中氨基甲酸酯类杀虫剂的高效液相色谱柱后衍生法 [J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(6): 857–859.
- Liu HC, Yang GY, Ma XT, *et al.* HPLC determination of residual carbamate insecticides in Chinese crude drugs post column derivation method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2006, 26(6): 857–859.
- [8] 丁晨红, 骆冲, 邓义才, 等. 分散固相萃取-反相高效液相色谱法测定蔬菜水果中 10 种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *热带农业科学*, 2014, 3(4): 77–82.
- Ding CH, Luo C, Deng YC, *et al.* Simultaneous determination of ten carbamate pesticide residues in vegetables and fruits with dispersive solid phase extraction cleanup and reverse phase high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Tropic Agric*, 2014, 3(4): 77–82.
- [9] 张蕴, 吴香伦, 汪尤刚, 等. 磁分散固相萃取-气相色谱法测定水中 8 种氨基甲酸酯类农药 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(11): 1521–1523.
- Zhang Y, Wu XL, Wang YG, *et al.* Determination of 8 carbamate pesticides in water with magnetic dispersive solid-phase extraction combined with gas chromatography [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2016, 26(11): 1521–1523.
- [10] 谭阳阳, 牛墨, 田红. 固相萃取-气相色谱质谱联用法测定蔬菜和食用菌中 6 种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *检验检疫学刊*, 2017, 27(6): 10–13.
- Tan YY, Niu M, Tian H. Determination of six kinds of carbamate pesticides in vegetables and mushrooms by solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Inspect Quarant Sci*, 2017, 27(6): 10–13.
- [11] 张帆, 黄志强, 张莹, 等. 高效液相和色谱-串联质谱法测定食品中 20 种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *色谱*, 2010, 28(4): 248–355.
- Zhang F, Huang ZQ, Zhang Y, *et al.* Determination of 20 carbamate pesticide residues in food by high performance liquid chromatography-trandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(4): 248–355.
- [12] 黄雪, 黄超群, 楼成杰, 等. 改进的石墨烯分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定茶叶中 15 种氨基甲酸酯类农药的残留量 [J]. *食品安全质量检测学报*. 2017, 8(5): 1552–1558.
- Huang X, Huang CQ, Lou CJ, *et al.* Determination of 15 kinds carbamate pesticides in tea by improved graphene dispersive solid-phase extraction-liquid chromatography-trandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(5): 1552–1558.
- [13] 张明, 唐访良, 徐建芬, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定地表水中 20 种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *质谱学报*, 2012, 33(3): 175–180.
- Zhang M, Tang FL, Xu JF, *et al.* Rapid determination of 20 carbamate residues in surface water by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2012, 33(3): 175–180.
- [14] 余宇成, 方灵, 苏德森, 等. 气相色谱-串联质谱法测定乌龙茶中 5 种氨基甲酸酯类农药 [J]. *分析测试学报*, 2016, (12): 1586–1590.
- Yu YC, Fang L, Su DS, *et al.* Determination of five carbamate pesticides residues in oolong tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2016, (12): 1586–1590.
- [15] GB/T 2763–2019 食品中农药最大残留限量[S].
- GB/T 2763–2019 Maximum residue limits of pesticides in food [S].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



张 晶, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品理化检验。

E-mail: jzhang@cdc.zj.cn



陈 苒, 博士, 主任医师, 主要研究方向为公共卫生。

E-mail: qingchen@cdc.zj.cn